



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 197 31 479 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁶:
G 01 N 21/63
G 01 N 21/64
// G 01 N 33/487,
33/533,33/543

②1 Aktenzeichen: 197 31 479.1
②2 Anmeldetag: 22. 7. 97
④3 Offenlegungstag: 6. 8. 98

DE 197 31 479 A 1

③0 Unionspriorität:
790837 30. 01. 97 US

⑦1 Anmelder:
Hewlett-Packard Co., Palo Alto, Calif., US

⑦4 Vertreter:
Schoppe, F., Dipl.-Ing.Univ., Pat.-Anw., 81479
München

⑦2 Erfinder:
King, David A., Palo Alto, Calif., US; Sampas,
Nicholas, San Jose, Calif., US; Schembri, Carol T.,
San Mateo, Calif., US

⑤6 Entgegenhaltungen:
DE 33 19 526 A1
EP 02 44 394 A2
WO 94 27 137 A2
Nature, 382, 1996, S. 697-700;
BioTechniques, 17, 1994, S. 516-524;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Vorrichtung und Verfahren mit Feldlichtquellenarray für eine integrierte Probenerfassung

⑤7 Eine Vorrichtung zum Analysieren von Zielchemikalien umfaßt ein Array von zwei oder mehr Lichtquellen. Jedes der Arrayelemente weist eine Lichtquelle auf. Die Lichtquelle weist eine emittierende Oberfläche auf, von der Licht emittiert werden kann. Zwei oder mehr chemische Binderanteile sind den Lichtquellen an den emittierenden Oberflächen zugeordnet. Diese chemischen Binderanteile können Zielchemikalien binden, derart, daß unterschiedliche Zielchemikalien an dem Array gebunden werden können. Licht, das durch die Lichtquellen emittiert wird, trifft auf die Zielchemikalien, die an den Lichtquellen gebunden sind und bewirkt eine Lichtwechselwirkung, beispielsweise eine Fluoreszenz, mit den Zielchemikalien, um ein Lichtmuster oder mehrere Muster zur Folge zu haben, um das Vorliegen oder die Menge der Zielchemikalien anzuzeigen. Das Array wird durch eine Feldgebungstechnik, die die Anordnung von Feldern von Arrayelementen in einem gewünschten Muster umfaßt, gebildet.

DE 197 31 479 A 1

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf die Erfassung von Chemikalien in einem chemischen Array und insbesondere auf das Schaffen einer Lichtquelle zum Erfassen von Chemikalien in einem chemikalischen Array.

In jüngeren Jahren wurden erfolgreich biomolekulare Arrays erzeugt. Beispielsweise offenbaren Fodor u. a., "Light-directed, Spatially Addressable Parallel Chemical Synthesis," Science, Bd. 251, 767-773 (1991), Arrays hoher Dichte, die durch eine Licht-geleitete Synthese gebildet sind. Das Array wurde zur Antikörpererkennung verwendet. Biomolekulare Arrays werden auch in der PCT-Veröffentlichung WO 89/10977 zum Analysieren von Polynucleotidsequenzen beschrieben. Derartige biomolekulare Arrays eignen sich für eine große Anzahl von Anwendungen, von der DNA- und Protein-Sequenzierung bis zum Erstellen von DNA-Fingerabdrücken und zur Krankheitsdiagnose.

Ein Lösungsansatz zum Synthetisieren eines Polymerarrays auf einem optischen Substrat ist bei Fodor u. a. (1991), siehe oben; den PCT-Veröffentlichungen WO 91/07087, WO 92/10587, und WO 92/10588; sowie dem US-Patent 5,143,854 beschrieben. Da die Vorrichtung und das Verfahren zum Synthetisieren eines Polymerarrays bei der vorliegenden Erfindung angewendet werden können, sind diese Offenbarungen hiermit durch Bezugnahme aufgenommen. Bei diesem Lösungsansatz wird ein Array unterschiedlicher Rezeptoren auf einem Substrat unter Verwendung photolithographischer Techniken synthetisiert. Liganden werden über das Array gespült. Entweder der Ligand ist fluoreszierend markiert oder ein zusätzlicher, fluoreszierend markierter Rezeptor wird ebenfalls über das Array gespült. Das Ergebnis ist, daß Fluorophore auf den Pixeln immobilisiert werden, auf denen eine Bindung zwischen dem Liganden und dem Rezeptor (den Rezeptoren) stattgefunden hat. Das Array wird mit einer Strahlung beleuchtet, die die Fluorophore anregt. Das Muster von hellen und dunklen Pixeln wird aufgezeichnet. Informationen über den Liganden werden erhalten, indem dieses Hell-Dunkel-Muster mit bekannten Mustern von Oberflächen-gebundenen Rezeptoren verglichen wird. Die oben genannten Dokumente beschreiben ein Verfahren zum Lesen des Arrays auf das Vorliegen von Fluorophoren. Beispielsweise offenbart die PCT-Veröffentlichung WO 92/10587 eine optische Abtastung eines Arrays durch das Leiten einer Anregung mit Licht durch ein Mikroskopobjektiv und das Sammeln der Fluoreszenz durch das gleiche Objektiv. Schembri u. a. (US-Anmeldung Seriennummer 08/739,396) beschreiben ein chemisches Array, das durch eine Feldgebungstechnik gebildet ist, die das Bilden mehrerer Felder und das Aufnehmen und Plazieren der Felder auf einem Träger einschließt. Jedoch erfordern Techniken zum Bilden von Arrays, die ähnlich den oben genannten sind, relativ sperrige Optiken zum Beleuchten des chemischen Arrays.

King u. a. (US-Anmeldung Seriennummer 08/520,456) beschreiben eine evaneszente Technik zum Beleuchten eines großen chemischen Arrays. Sie erwähnen einige unterschiedliche Lichtquellen, einschließlich eines Diodenlasers, eines Oberflächen-emittierenden Vertikalhohlraumlasers (VCSEL), und einer Licht-emittierenden Diode (LED). Bei derartigen evaneszenten Techniken muß ein komplexes chemisches Array auf eine komplizierte in-situ-Art und Weise unter Verwendung von Synthetisierungsschritten, beispielsweise denen, die von Fodor u. a. verwendet werden, gebildet werden. Es wird eine Vorrichtung benötigt, die in der Lage ist, ein chemisches Array mit einer kompakten Lichtquelle zu beleuchten, die mit einem relativ einfachen Prozeß gebildet werden kann.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, eine Vorrichtung zum Analysieren von Zielchemikalien zu schaffen, die eine kompakte Lichtquelle, die mittels eines einfachen Verfahrens herzustellen ist, aufweist.

Diese Aufgabe wird durch eine Vorrichtung gemäß Anspruch 1 gelöst.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, ein Verfahren zum Herstellen einer derartigen Vorrichtung zum Analysieren von Zielchemikalien zu schaffen.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren gemäß Anspruch 6 gelöst.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, ein Verfahren zum Analysieren von Zielchemikalien zu schaffen.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren zum Analysieren von Zielchemikalien gemäß Anspruch 10 gelöst.

Die vorliegende Erfindung schafft eine Vorrichtung zum Analysieren von Zielchemikalien. Die Vorrichtung enthält ein Array von zwei oder mehr Lichtquellen (beispielsweise Diodenlasern), von denen jede eine emittierende Oberfläche aufweist, von der Licht von der Lichtquelle emittiert werden kann. Zwei oder mehr chemische Binderanteile sind den Lichtquellen an den emittierenden Oberflächen zugeordnet. Diese chemischen Binderanteile dienen zum Binden von Zielanteilen, derart, daß an dem Array unterschiedliche Zielchemikalien gebunden werden können. Wenn sie aktiviert sind, werden die Lichtquellen Licht emittieren, um eine Lichtwechselwirkung (beispielsweise ein Fluoreszenz) mit den Zielchemikalien zu bewirken, um ein Lichtmuster oder mehrere Lichtmuster zur Folge zu haben, um das Vorliegen oder die Menge der Zielchemikalien anzuzeigen.

Die Arrayelemente weisen jeweils eine Lichtquelle und einen oder mehrere chemische Binderanteile auf. Die Arrayelemente werden durch eine Feldgebungstechnik (tiling technique) gebildet. Allgemein werden Wafer eines Lichtquellen-Festkörpermateriale mit einer Chemikalie mit den gewünschten chemischen Binderanteilen, die zum Binden der gewünschten Zielchemikalien geeignet sind, beschichtet, in kleinere Felder unterteilt, wobei die Felder aufgenommen und in einer vorbestimmten Form angeordnet werden. Ein derartiges Array kann vorteilhaft verwendet werden, um eine Probe zu analysieren, von der erwartet wird, daß sie bestimmte Analyte enthält. Indem die Probe dem Array ausgesetzt wird, kann, wenn eine Zielchemikalie an einem bestimmten Ort gebunden wird, die Identität derselben bestimmt werden. Durch das Beleuchten der Zielchemikalie, die an dem Array gebunden ist, und das Erfassen der resultierenden Lichtwechselwirkung kann das Vorliegen oder die Menge der Zielchemikalien bestimmt werden.

Die Technik zum Aufbauen des Arrays ist relativ einfach. Da jeder Wafer hergestellt sein kann, um auf nur eine Art einer Zielchemikalie abzielen, sind keine komplizierten chemikalischen Synthetisierungsschritte notwendig, um eine komplexe Anordnung zu bilden, die zahlreiche Arten von chemischen Binderanteilen auf dem Array enthält. Da die Festkörperlichtquellen relativ klein sein können, kann durch das Bilden der Bindermoleküle oder der Binderchemikalien (die die chemischen Binderanteile enthalten) auf den Lichtquellen eine kompakte Vorrichtung aufgebaut werden, die zum Erfassen von Zielchemikalien geeignet ist. Wenn sie an den Lichtquellen gebunden sind, bilden die Zielchemikalien ferner eine Einheit mit den Lichtquellen. Diese integrierte Anordnung bietet für das Analysieren von Proben große Vorteile. Es besteht kein Bedarf danach, Anregungslicht von den Lichtquellen unter Verwendung zusätzlicher komplexer Abbildungsoptiken, beispielsweise Lichtrohren, Linsen, Prismen, Spiegeln, Strahlsteuermechanismen und dergleichen, auf die Zielchemikalien zu kollimie-

ren oder zu kanalisieren. Dies reduziert eine Strahlverzerrung, ein Rauschen und den Aufwand zum Ausrichten der Lichtquellen mit dem chemischen Array stark. Ferner trennen sich die Lichtquellen und die chemikalischen Binderanteile, und somit die Zielchemikalien, die an denselben gebunden sind, als eine integrierte Einheit nicht ohne weiteres. Auf diese Weise wird eine größere Zuverlässigkeit erreicht. Zusätzlich kann mittels der vorliegenden Technik ein Array mit hoher chemischer Wiedergabegüte hergestellt werden. Die Qualität jedes einzelnen Wafers kann vor dem Aufnehmen und Plazieren der Felder in der Arrayanordnung untersucht werden. Schlechte Felder können beseitigt werden, um sicherzustellen, daß alle Arrayelemente in einem Array die Spezifikation erfüllen.

Bevorzugte Ausführungsbeispiele werden nachfolgend bezugnehmend auf die beiliegenden Zeichnungen, in denen gleiche Bezugszeichen gleiche Merkmale beschreiben und die nicht maßstäblich sind, näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung des Verfahrens zum Bilden eines Arrays gemäß der vorliegenden Erfindung, die die Stufen a, b, c, d, e und f während des Herstellungsverfahrens zeigt;

Fig. 2 eine schematische Darstellung eines Abschnitts der Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung, die einen Abschnitt des Arrays mit Erfassungsoptiken zeigt;

Fig. 3 eine schematische Darstellung von Einzelheiten eines Abschnitts eines Arrays gemäß der vorliegenden Erfindung;

Fig. 4 eine schematische Darstellung von Einzelheiten eines weiteren Ausführungsbeispiels eines Arrays gemäß der vorliegenden Erfindung;

Fig. 5 eine schematische Darstellung eines Ausführungsbeispiels der Anordnung von Arrayelementen in einem Array in einem Abschnitt gemäß der vorliegenden Erfindung; und

Fig. 6 eine schematische Darstellung eines Ausführungsbeispiels eines Arrays, das in einer kreisförmigen Form gemäß der vorliegenden Erfindung angeordnet ist.

Die vorliegende Erfindung liefert ein Analyt-Erfassungsarray mit einer Mehrzahl von Lichtquellen in einer integrierten Beziehung zu chemischen Binderanteilen zum Binden der Analyte. Die Lichtquellen werden durch das Unterteilen von Wafern eines Lichtquellenmaterials in kleinere Felder (tiles) gebildet.

Innerhalb dieser Beschreibung und den nachfolgenden Ansprüchen wird auf eine Anzahl von Ausdrücken Bezug genommen, die wie nachfolgend definiert verwendet werden.

Ein "Array" ist eine Anordnung von Objekten in einem Raum, in dem jedes Objekt eine getrennte vorbestimmte räumliche Position besetzt. Jedes der Objekte in dem Array in einer Vorrichtung dieser Erfindung enthält eine oder mehrere Spezies eines chemikalischen Binderanteils, der an einer Lichtquelle befestigt ist, derart, daß der physikalische Ort jeder Spezies bekannt oder feststellbar ist.

Ein "Wafer aus einem Lichtquellenmaterial" ist eine Einheit aus einem im wesentlichen planaren Material, das gehandhabt werden kann und noch seine Identität behält. Der Wafer weist eine Mehrzahl von Lichtquellen auf, die in einer linearen oder zweidimensionalen Form angeordnet sind und in "Felder" unterteilt werden können, die mit einer elektrischen Quelle verbunden werden können, um Licht zu emittieren. Der Wafer kann derivatisiert (derivatized) werden, um die chemischen Binderanteile zu liefern. Die Felder können auf unterschiedliche Weisen wieder zusammengestellt werden, um ein physikalisches Array zu bilden. Vorzugsweise weisen die Felder regelmäßige geometrische Formen auf, beispielsweise einen Sektor eines Kreises, ein Rechteck

und dergleichen, mit radialen oder linearen Abmessungen von etwa 100 µm bis etwa 10 mm, vorzugsweise etwa 250 µm bis etwa 1.000 µm. Die Unterteilung des Lichtquellenmaterials in Felder kann entweder vor oder nach der Bindung des chemischen Binderanteils und durch jedes geeignete Verfahren zum Schneiden des Wafers, beispielsweise mit einer Vereinzelungssäge, durchgeführt werden. Diese Verfahren sind auf dem Gebiet der Halbleiterchipherstellung gut bekannt und können durch Fachleute für das spezielle Material, das zur Verwendung bei dieser Erfindung ausgewählt wird, optimiert werden.

Ein "Träger" ist eine Oberfläche oder Struktur für die Anbringung der Felder. Der "Träger" kann jede gewünschte Form und Größe aufweisen und kann aus einer Vielzahl von Materialien hergestellt sein. Das Trägermaterial kann für eine Biokompatibilität behandelt sein (d. h., um biologische Proben und Sonden vor unerwünschten Struktur- oder Aktivitäts-Änderungen auf den Kontakt mit der Trägersoberfläche hin zu schützen) und für eine Reduzierung einer nicht-spezifischen Bindung biologischer Materialien an dem Träger. Diese Verfahren sind in der Technik gut bekannt (siehe z. B. Schöneich u. a., Anal. Chem. 65 : 67-84R (1993)). Die Felder können mittels eines Klebers, durch das Einbringen in eine Tasche oder einen Kanal, der in dem Träger gebildet ist, oder mittels jeder anderen Einrichtung, die eine stabile und sichere räumliche Anordnung liefern wird, an dem Träger befestigt sein.

Die "Feldgebung" ist ein Verfahren des Bildens eines Arrays durch das Aufnehmen und Plazieren einzelner Felder, die einzelne oder mehrere Spezies chemischer Anteile enthalten, auf einem Träger in einem festen räumlichen Muster.

Ein "chemischer Binderanteil" ist ein organisches oder inorganisches Molekül, oder ein Abschnitt desselben, der sich an eine Zielchemikalie binden kann. Bei dieser Erfindung wird der chemische Binderanteil vor der Feldgebung auf einem Wafer aus dem Lichtquellenmaterial gebunden, im Unterschied zu einem organischen Molekül, das in situ auf einer Arrayoberfläche synthetisiert wird, wie dies bei bekannten Verfahren mit chemischen Arrays der Fall war, beispielsweise denjenigen, die von Fodor u. a., siehe oben, verwendet werden. Die bevorzugte Bindungsart ist eine kovalente Bindung, obwohl eine nichtkovalente Bindungseinrichtung oder eine Immobilisierung geeignet sein könnten, abhängig von dem speziellen Typ des chemischen Anteils, der verwendet wird. Wenn es erwünscht ist, kann ein "chemischer Binderanteil" durch den Zusatz oder die Beseitigung von Gruppen, nachdem der Anteil an einem Wafer aus dem Lichtquellenmaterial gebunden ist, kovalent modifiziert werden.

Die chemischen Binderanteile dieser Erfindung sind vorzugsweise "bioorganische Moleküle" eines natürlichen oder synthetischen Ursprungs, sind für eine Synthese oder Vielfältigkeit durch chemische, biochemische oder molekularbiologische Verfahren tauglich, und sind in der Lage, mit biologischen Systemen in Wechselwirkung zu treten, beispielsweise Zellrezeptoren, Immunsystemkomponenten, Wachstumsfaktoren, Komponenten der extrazellulären Matrix, der DNA und der RNA, und dergleichen. Die bevorzugten bioorganischen Moleküle zur Verwendung bei den Arrays dieser Erfindung sind "molekulare Fühler", die aus Nukleinsäuren (oder Anteilen derselben), Proteinen (oder Anteilen derselben), Polysacchariden (oder Anteilen derselben) und Lipiden (oder Anteilen derselben) ausgewählt sind, beispielsweise Oligonukleotiden, Peptiden, Oligosacchariden oder Lipidgruppen, die für eine Verwendung bei der molekularen Erkennung und bei auf der Affinität basierenden Untersuchungen tauglich sind (beispielsweise Antigen-Antikörper, Rezeptor-Liganden, Nukleinsäuren-Protein, Nu-

kleinsäuren-Nukleinsäure, und dergleichen). Ein Array kann unterschiedliche Familien von bioorganischen Molekülen enthalten, beispielsweise Proteine und Nukleinsäuren, wird jedoch typischerweise zwei oder mehr Spezies der gleichen Molekülfamilie enthalten, beispielsweise zwei oder mehr Sequenzen von Oligonukleotid, zwei oder mehr Proteinantigene, zwei oder mehr chemisch unterschiedliche kleine organische Moleküle, oder dergleichen. Ein Array kann aus zwei Molekülspezies gebildet sein, obwohl es bevorzugt ist, daß das Array mehrere zehn bis tausende von Molekülspezies enthält, vorzugsweise von etwa 50 bis etwa 1.000 Spezies. Jede Spezies kann auch in mehreren Kopien vorliegen, wenn es erwünscht ist.

Ein "Analyt" ist ein Molekül, dessen Erfassung in einer Probe erwünscht ist, und das sich selektiv oder spezifisch an einen chemischen Binderanteil, beispielsweise einen Molekularfühler, bindet. Ein Analyt kann von dem gleichen oder einem unterschiedlichen Molekültyp sein wie der Molekularfühler, an den sich dasselbe bindet.

Eine "Zielchemikalie" ist ein Molekül, das das Analyt enthält, und kann eine Lichtwechselwirkung mit einem Anregungslicht, das von der Lichtquelle emittiert wird, zur Folge haben. Die Zielchemikalie kann ferner eine Markierung enthalten, die die Lichtwechselwirkung erleichtert. Beispiele von Markierungen sind fluoreszente oder phosphoreszente Materialien. Das Analyt selbst kann die Zielchemikalie sein, wenn das Analyt selbst Licht emittiert, beispielsweise fluoresziert, wenn es durch das Anregungslicht beleuchtet wird.

Ein "Verbinder" ist ein Molekül, das in der Lage ist, den chemischen Binderanteil mit dem derivatisierten Lichtquellenmaterial zu verbinden. Ein Verbinder muß nicht vorliegen, wenn der chemische Binderanteil in der Lage ist, sich direkt an das derivatisierte Lichtquellenmaterial zu binden.

Bevorzugte Ausführungsbeispiele

Fig. 1 zeigt ein veranschaulichendes Beispiel eines Arrays der vorliegenden Erfindung. Die Stufen (a), (b), (c), (d), (e) und (f) zeigen die unterschiedlichen Stufen für die Herstellung des Arrays. (Diese Stufen werden später beschrieben.) Das Array 100 in Fig. 1(f) weist eine Mehrzahl von Lichtquellen 12 auf, die auf einer Oberfläche 14 eines Trägers 133 angeordnet sind. Jede der Lichtquellen weist eine Oberfläche 16 auf, auf der Bindermoleküle 18 gebunden sind. Jedes Bindermolekül 18 weist einen chemischen Binderanteil 20 auf, der zum Binden eines Zielanteils einer Zielchemikalie geeignet ist. Eine Vielzahl von chemischen Binderanteilen 20 liegt auf den Oberflächen der Lichtquellen 12 vor, derart, daß unterschiedliche Zielchemikalien an dem Array 100 gebunden werden können. Vorzugsweise weist jede Lichtquelle 12 nur eine Art einer chemikalischen Bindereinheit, die derselben zugeordnet ist, auf, derart, daß jede Lichtquelle einer Art einer Zielchemikalie zugeordnet ist.

Auf jeder der Zielchemikalien ist ein Lichtwechselwirkungsanteil (beispielsweise ein Fluorophor), der eine Lichtwechselwirkung (beispielsweise eine Fluoreszenz) bewirken wird, wenn der Lichtwechselwirkungsanteil durch Licht, das von der Lichtquelle, der derselbe zugeordnet ist, emittiert wird, aktiviert wird. Auf diese Weise kann durch das Aktivieren der Lichtquellen 12 das Vorliegen oder die Menge von Zielchemikalien, die an dem chemischen Binderanteil auf den Lichtquellen gebunden sind, bestimmt werden.

Fig. 2 zeigt ein Beispiel der analytischen Vorrichtung der vorliegenden Erfindung zum Analysieren von Chemikalien in chemischen Arrays. Auf einem Träger 133 befindet sich

ein Array 101 von Lichtquellen 108, die Festkörper-Lichtquellen 109 (oder optische Quellen) aufweisen. Beispiele von Festkörperlichtquellen 109, die für eine Anwendung bei der vorliegenden Erfindung geeignet sind, umfassen Oberflächenemittierende Vertikalhohlraumlasers (VCSEL), lichtemittierende Dioden (LED) und Diodenlaser. Vorzugsweise ist jede der Lichtquellen 108 eine derartige Festkörperlichtquelle. Bei diesem Ausführungsbeispiel ist jede der Festkörperlichtquellen durch die Feldgebung (oder Vereinzelung) eines großen Wafers aus einem Festkörper-Lichtquellenmaterial in kleinere Stücke gebildet. Als eine Folge des Feldgebungsverfahrens weist jedes der Felder eine lichtemittierende Oberfläche 102, die gerade Kanten 102A aufweist, auf. Wenn es erwünscht ist, können die Lichtquellen jedoch geschnitten werden, um ungerade Kanten aufzuweisen. An den Oberflächen 102 der Lichtquellen 108 sind Bindermoleküle 103 gebunden. Als ein veranschaulichendes Beispiel sind in Fig. 2 drei Typen von Bindermolekülen (A, B, C) gezeigt, von denen jedes seinen jeweiligen chemischen Binderanteil (a, b, c) aufweist. Der chemische Binderanteil (a, b, c) kann zum Binden von Zielanteilen (a', b', c'), die Zielchemikalien (A', B', C') zugeordnet sind, verwendet werden. Auf diese Weise kann eine Vielzahl von Zielchemikalien 104 gebunden werden, indem eine Mehrzahl von Lichtquellen, beispielsweise 109, in dem Array 101 vorliegt.

Wenn eine Elektrizität an die Lichtquellen in dem Array 101, beispielsweise die Festkörperlichtquellen 109, angelegt wird, emittieren die Lichtquellen Licht, um auf die Zielchemikalien aufzutreffen. Die Zielchemikalien, von denen jede eine Markierung enthält, werden eine Lichtwechselwirkung bewirken, wenn das Anregungslicht von einer Lichtquelle auf dieselben auftrifft. Beispiele einer Lichtwechselwirkung, die für eine Anwendung beim Erfassen von Zielchemikalien geeignet sind, umfassen Fluoreszenz und Phosphoreszenz, eine Lichtstreuung und eine Lichtabsorption. Das Licht als ein Ergebnis der Lichtwechselwirkung kann durch einen Lichtdetektor 106 erfaßt werden.

Bei Lichtwechselwirkungen, die Licht einer Wellenlänge zur Folge haben, die sich von der des Anregungslichts unterscheidet, kann das Licht als eine Folge der Lichtwechselwirkung durch ein Filter 105 spektral gefiltert werden, um die Anregungsstrahlung der Lichtquellen auszuschließen. Ein Beispiel eines geeigneten Filters ist ein Filter mit dielektrischer Beschichtung. Bei einer Lichtwechselwirkung, die eine Absorption beinhaltet, wird der Detektor eine Abnahme der Lichtübertragung erfassen. Bei der Erfassung einer Lichtwechselwirkung, die eine Lichtstreuung beinhaltet, sollte der Lichtdetektor derart positioniert werden, daß der direkte Weg des Anregungslicht nicht durch den Detektor verläuft. Auf diese Weise wird das Anregungslicht keine falschen Signale erzeugen. Optional kann ein optisches Sammel- und Abbildungs-System 107, das beispielsweise Linsen aufweist, verwendet werden, um das Licht von der Lichtwechselwirkung durch das Filter 105 parallel zu richten, um auf den Detektor 106 aufzutreffen, wodurch die optischen Signale verbessert werden.

Fig. 3 zeigt weitere Einzelheiten eines Ausführungsbeispiels der vorliegenden Erfindung, bei dem die Lichtquelle ein Diodenlaser ist. Nur ein Abschnitt des Arrays ist gezeigt. Der Diodenlaser 140 ist an einer Trägeroberfläche 14 befestigt. Der Diodenlaser 140 weist ein Verstärkungsmedium 144 auf, das zwischen einem oberen Reflektor 146 und einem unteren Reflektor 148 angeordnet ist. Jeder der Reflektoren 146, 148 besteht vorzugsweise aus Schichten eines dielektrischen Materials. Auf der Oberseite des Reflektors 146 ist eine Beschichtung 150 aufgebracht, die für die Befestigung eines Bindermoleküls D geeignet ist. Das Bindermolekül D weist einen chemischen Binderanteil d auf, der für

eine Bindung an einem Zielanteil d' einer Zielchemikalie D' geeignet ist.

Fig. 4 zeigt einen Abschnitt noch eines weiteren Ausführungsbeispiels des Arrays der vorliegenden Erfindung. Bei diesem Ausführungsbeispiel ist die Lichtquelle eine lichtemittierende Diode (LED). Die lichtemittierende Diode 154 weist eine Schicht aus einem dielektrischen Material 156 auf, die auf der Oberseite einer Schicht aus einem lichtemittierenden Material 158 angeordnet ist. Wiederum befindet sich auf der Oberseite der LED 154 eine Beschichtung 150, die für die Befestigung von Bindermolekülen, beispielsweise dem Bindermolekül D, geeignet ist.

Fig. 5 zeigt ein Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung, bei dem das chemische Array 201 durch ein Stapeln mehrerer linearer Arrays von Lichtquelleneinheiten 108 gebildet ist. Träger 202 weisen elektrische Kontakte auf, um die Lichtquelleneinheiten 108 zu aktivieren. Die Punkte, die in Fig. 5 gezeigt sind, zeigen an, daß zusätzliche Lichtquelleneinheiten und zusätzliche Schichten von linearen Arrays hinzugefügt werden können. Es können hunderte, sogar tausende von Elementen oder mehr in einem Array existieren. Die Lichtquellen in dem Array können auch in einer kreisförmigen oder zylindrischen Form angeordnet sein, wie in Fig. 6 gezeigt ist. Bei dieser Anordnung sind die Lichtquellen 220 auf der zylindrischen Oberfläche 222 eines Trägers 224 angeordnet.

Bilden des Arrays

Fig. 1 zeigt, wie ein typisches Array gebildet wird. Ein im wesentlichen planarer Wafer aus einem Festkörper-Lichtquellenmaterial (Schritt a, 121) wird mit chemisch reaktiven Gruppen derivatisiert (Schritt b, 123). Diese Gruppen werden kovalent an Verbinder-molekülen gebunden (Schritt c, 125). Selbstverständlich kann einer oder beide dieser Schritte umgangen werden, wenn geeignete funktionelle Gruppen und/oder Verbinder inhärent in dem Material, das für die Verwendung ausgewählt ist, vorliegen. Die Verbinder dienen als Befestigungsstellen für chemische Binderanteile. Die Verbinder werden mit einer Lösung oder Tröpfchen der chemischen Binderanteile kontaktiert. Nachdem eine Bindung zwischen den Verbindern und den chemischen Binderanteilen stattgefunden hat, werden nicht reagierte Anteile durch Spülen mit einer geeigneten Flüssigkeit, beispielsweise Wasser, entfernt. Auf diese Weise werden die Bindermoleküle gebildet. Nicht reagierte Verbinder werden behandelt, um dieselben bei nachfolgenden Arrayherstellungsschritten chemisch inert zu machen und deren Fähigkeit zu minimieren, während nachfolgender Untersuchungsverfahren mit Analyten in Wechselwirkung zu treten. Diese Behandlung wird hierin generell als "Abdecken" ("capping") bezeichnet. Somit kann beispielsweise ein reaktives Aldehyd oder eine Isothiocyanat-Gruppe mit einem Amin oder Ammoniak abgedeckt werden, eine reaktive Epoxydgruppe kann mit einer Säurelösung in ein Diol umgewandelt werden, usw. In einem Schritt (d) sind alle Verbinder an der gleichen Spezies eines chemischen Binderanteils (127) angebracht gezeigt. Es sollte jedoch offensichtlich sein, daß mehr als eine Spezies eines chemischen Binderanteils mit einem speziellen Verbinder verbunden sein kann, wenn dies erwünscht ist.

Das Wafermaterial wird in einzelne Felder unterteilt (Schritt (e), 129). Die Unterteilung kann vor oder nach dem Schritt (b) stattfinden. In einem Schritt (f) werden die Felder, die die gleiche oder unterschiedliche Spezies von chemischen Binderanteilen enthalten (allgemein bei 20 gezeigt) auf einem Träger 133 angeordnet, um ein Array zu bilden. Bei einem Ausführungsbeispiel der Erfindung, das in Fig. 6

gezeigt ist, sind die Felder 220 zylindrisch auf einer Oberfläche 222 eines Trägers 224 angeordnet. Der Träger kann ein solider Stab sein, bei dem die Felder auf der Peripherie angeordnet sind, wie hier gezeigt ist, oder der Träger kann eine röhrenförmige Struktur sein, bei der die Felder auf der äußeren oder inneren Oberfläche der Röhre angeordnet sind, oder zwischen äußeren und inneren Oberflächen, wenn diese voneinander beabstandet sind. Weitere Änderungen dieser Form fallen bestimmungsgemäß in den Bereich dieser Erfindung.

Eine Vielzahl geeigneter Lichtquellenmaterialien kann verwendet werden, vorausgesetzt, das Material ist für eine Unterteilung in Felder tauglich, mit der Chemie, die für die Bindung der Bindermoleküle an der lichtemittierenden Oberfläche mit den geeigneten chemischen Binderanteilen ausgewählt ist, kompatibel und optisch mit dem Erfassungsverfahren der Untersuchung, bei der das Array verwendet werden soll, kompatibel. Beispiele eines geeigneten Materials umfassen, ohne eine Begrenzung, oberflächenemittierende Vertikalhohlraumlasern (VCSELs), lichtemittierende Dioden (LEDs) und Diodenlaser, wobei alle derselben lichtemittierende Facetten (oder Oberflächen) aufweisen. Quantumpunkt-laserdioden werden ebenfalls als brauchbar betrachtet. Beispiele von Literaturquellen für ein derartiges Lichtquellenmaterial umfassen beispielsweise Salah und Teich, Fundamentals of Photonics, Wiley-Interscience, New York, 1991, S. 593-641, und Bare u. a., "A simple surface-emitting LED array useful for developing free-space optical interconnects", I.E.E.E., Photon. Tech. Lett., Bd. 5, 172-175, 1993, und (bezüglich einem Array von oberflächenemittierenden Vertikalhohlraumlasern (VCSEL)): Salah und Teich, siehe oben, Seite 638.

Basierend auf der vorliegenden Offenbarung wird ein Fachmann Kenntnis haben, wie die Wafer eines solchen lichtemittierenden Festkörperquellenmaterials chemisch zu derivatisieren und in Felder zu unterteilen sind. Es sollte offensichtlich sein, daß auf einem Wafer aus VCSELs die planare Oberfläche des Wafers die lichtemittierende Oberfläche ist, und daß diese Oberfläche chemisch derivatisiert und in Felder unterteilt werden kann. Bei kantenemittierenden Laserdioden befinden sich die emittierenden Oberflächen der Laserdioden auf einem Wafer auf der Kante in der Form eines linearen Arrays. In diesem Fall wird die lichtemittierende Oberfläche auf diesem linearen Array (Wafer) chemisch derivatisiert, um die chemischen Binderanteile zu übermitteln, und danach in Felder geteilt.

Verschiedene Techniken können verwendet werden, um Verbinder- oder Binder-Moleküle an den Lichtquellen zu binden. Ein Routineverfahren zum Derivatisieren einer Glas- oder Silizium-Oberfläche, das zur Derivatisierung der lichtemittierenden Facetten der Lichtquellen verwendet werden kann, für die Bindung der Binder- oder Verbinder-Moleküle besteht in der Bildung von Siloxan-Bindungen unter Verwendung von Organosilanen, beispielsweise 3-Glycidoxypentyl-Trimethoxysilan ("GOPS"), 3-Aminopropyltriethoxysilan (APS) und dergleichen, die gut bekannte chemische Eigenschaften aufweisen. Das Verbinder-molekül kann ein bifunktionelles Reagenz sein, das die Oberfläche an eine Gruppe bindet und den chemischen Binderanteil an die andere. Alternativ kann der Verbinder ein Reagenz sein, das kovalent an die Oberfläche gebunden ist (beispielsweise Streptavidin, Avidin, usw.) und an das interessierende Molekül durch eine nicht-kovalente Wechselwirkung hoher Affinität (beispielsweise Biotin). Verfahren zum kovalenten Verbinden chemischer Binderanteile mit verschiedenen Materialien zur Verwendung bei Affinitätsreinigungsverfahren sind gut bekannt. Siehe allgemein Affinity Techniques. Enzyme Purification: Part B. Methods in Enzymology, Bd. 34,

W.B. Jakoby, M. Wilchek, Acad. Press, NY (1974), und Immobilized Biochemicals and Affinity Chromatography, Advances in Experimental Medicine and Biology, Bd. 42, R. Dunlap, Plenum Press, NY (1974). Die kovalente Bindung von Oligonukleotiden an Festkörperträgern zur Verwendung bei Hybridisierungsuntersuchungen ist bei Ghosh & Musso, Nuc. Acids Res. 15: 5353-5372 (1987) und Eggers u. a., Bio Techniques 17: 516-524 (1994), beschrieben. Selbstverständlich sollten die gebundenen chemischen Binderanteile in der Lage sein, bei Bindungsuntersuchungen frei mit den Zielchemikalien in Wechselwirkung zu treten (beispielsweise sollte ein gebundenes Oligonukleotid frei sein, um sich mit einer komplementären Nukleinsäure zu kreuzen oder sich an ein sequenzspezifisches Protein zu binden, ein Antigen muß in der Lage sein, mit einem Antikörper in Wechselwirkung zu treten, usw.). Weitere Beispiele von Veröffentlichungen, die sich auf das Binden von Chemikalien an ein Substrat beziehen, umfassen die PCT-Veröffentlichung 89/10977; die PCT-Veröffentlichung WO 91/07087; das US-Patent 5,143,854; und die WO 92/10092.

Die chemischen Binderanteile, die zur Verwendung bei den Arrays dieser Erfindung bestimmt sind, sind allgemein bioorganische Moleküle, wie oben definiert wurde, die Molekulargewichte von mehreren hundert Dalton bis etwa mehrere hundert Kilodalton aufweisen. Vorzugsweise soll die Dichte von Molekülen, die an einer Lichtquelle in einem einzelnen Feld gebunden sind, in dem Bereich von etwa 1.000 bis etwa 100.000 Moleküle pro Quadratmikrometer der Oberfläche liegen.

Bei einer Lichtwechselwirkung, beispielsweise einer Fluoreszenz und Phosphoreszenz, weist das Licht, das eine Folge der Lichtwechselwirkung ist, eine unterschiedliche, allgemein längere Wellenlänge als das Anregungslicht, das von der Lichtquelle emittiert wird, auf, wenn Licht von der Lichtquelle auf die Markierung trifft. Daher bewirkt das Anregungslicht ein geringeres Rauschproblem, da ein Filter verwendet werden kann, um die Intensität desselben zu reduzieren, derart, daß das Fluoreszenz- oder Phosphoreszenz-Licht selektiv erfaßt werden kann. Beispiele geeigneter Markierungen, die verwendet werden können, umfassen gut bekannte und allgemein verfügbare, beispielsweise Fluoreszeine, Indokarbozyanin-Farbstoffe (beispielsweise CY3, CY5), TEXAS RED, Ethidium-Bromid und chelatisierte Lanthanide. In bestimmten Fällen kann, um das Lichtwechselwirkungssignal zu erhöhen, ein Rezeptor, der in der Lage ist, viele Moleküle einer Markierung zu binden, an das Analyt gebunden werden und in die Zielchemikalie eingeschlossen werden, die selbstverständlich an das Bindermolekül auf der Lichtquelle gebunden werden kann. Diese Markierungstechniken und Messungen liegen innerhalb der Kenntnis von Fachleuten. Siehe beispielsweise die PCT-Veröffentlichung WO 91/07087.

Beim Sammeln von Signalen bei der Lichtwechselwirkung besteht eine Möglichkeit, Rauschen zu reduzieren, darin, Markierungen zu verwenden, die kompatibel mit einer Zeit-aufgelösten Fluoreszenz sind, welche Fachleuten auf dem Gebiet der chemischen Analyse unter Verwendung von Markierungen bekannt ist. Dies ist besonders vorteilhaft bei der Frequenz-Multiplex-Technik, die später erläutert wird. Die Verwendung der Zeit-aufgelösten Fluoreszenz liefert einen Phasenunterschied zwischen dem Anregungslicht und dem Fluoreszenzlicht, wodurch ermöglicht wird, daß Hintergrund und Rauschen reduziert und unterdrückt werden. Die Zeit-aufgelöste Fluoreszenz erfordert vorzugsweise Detektoren und Lichtquellen großer Bandbreite. Typische Farbstoffe für eine Zeit-aufgelöste Fluoreszenz, die für die vorliegende Erfindung geeignet sind, weisen Lebenszeiten in der Größenordnung von etwa einigen 10 Nanosekunden

den oder weniger auf, beispielsweise Ethidium-Bromid. Folglich sind Lichtquellen und Lichtdetektoren mit Bandbreiten von mehr als etwa 1 MHz bevorzugt.

Bei einer Lichtwechselwirkung, bei der keine Änderung der Spektralfrequenz erwartet wird, wenn die Zielchemikalie beleuchtet wird, beispielsweise einer Lichtabsorption oder einer Lichtstreuung, muß keine Markierung notwendig sein, wobei das Analyt die Zielchemikalie ist. Jedoch kann eine Markierung verwendet werden, um die Lichtabsorption oder die Lichtstreuung zu erleichtern.

Um das Lichtquellenmaterial zu derivatisieren, sind die chemischen Binderanteile in einer Lösung enthalten, die in der Form von Tröpfchen zu der Bindungsoberfläche des Wafers geliefert werden kann (siehe beispielsweise die EP-0268237 für ein Beispiel einer Vorrichtung, die zum Ausgeben und Drucken von Reagenzien geeignet ist), wobei die Lösung alternativ vorzugsweise in Kontakt mit der Oberfläche gehalten werden kann. Es wird angenommen, daß einige der Arrays, die durch das Verfahren dieser Erfindung gebildet werden, mehrere Spezies von Verbindermolekülen oder eine einzelne Spezies von Verbindermolekülen enthalten werden.

Wie oben bemerkt wurde, können die Felder auf jede Art und Weise gebildet werden, die geeignet ist, um das Lichtquellenmaterial zu unterteilen. Ein Verfahren ist die Sägevereinzeln. Typischerweise wird das Material auf die folgende Art und Weise mit einer handelsübliche Vereinzelnungssäge vereinzelt. Das Material, beispielsweise ein Wafer, wird zur Befestigung auf einem Vakuumfutter auf einem Dünnfilmhafträger plaziert. Das Vereinzelnungsgerät ist mit Informationen über die Form des Materials, das geschnitten werden soll, die gewünschte Tiefe des Schnitts und die Geschwindigkeit der Bewegung des Futters zu der Klinge hin (wobei angenommen wird, daß die Position der Klinge fest ist) programmiert. Das Material wird mit einer Klinge, beispielsweise einer Metall- oder einer Diamant-imprägnierten Klinge, die sich mit einer Geschwindigkeit von etwa 20.000 Umdrehungen pro Minute (rpm) dreht, in eine erste Richtung geschnitten. Abfall, der durch das Schneiden erzeugt wird, kann mit einem Luft-, Gas- oder Flüssigkeits-Strahl von der Schnittoberfläche weggeleitet werden. Das Material wird dann um einen gewünschten Winkel gedreht, woraufhin das Schneiden in eine zweite Richtung fortgesetzt wird, bis die Bildung der Felder abgeschlossen ist. Ein Beispiel von Dokumenten über das Vereinzeln von Festkörperwafern ist bei Gerry Bariepy, "Wafer dicing: Theory and Practice," Elektronik Manufacturing and Testing, Dezember 1985, angegeben.

Ein weiteres Verfahren zum Bilden der Felder ist ein Spalten. Kristallgitter sind in einem Wafer eines Festkörpermaterials zu finden. Der Wafer kann entlang von Linien in den Kristallgittern gespaltet werden, wodurch eine relativ saubere Trennung gespalteter Teile ohne die Bildung von viel Abfall möglich ist. Abhängig davon, ob der Wafer ein Wafer auf der planaren Oberfläche (beispielsweise VCSEL) oder ein kantenemittierender lichtemittierender Wafer (beispielsweise eine Platte einer kantenemittierenden Laserdiode) ist, kann eine leicht unterschiedliche Unterteilungstechnik verwendet werden. Basierend auf der vorliegenden Offenbarung werden Fachleute in der Lage sein, den Wafer in Felder von Lichtquellen zu unterteilen.

Ein in Felder unterteiltes Array der vorliegenden Erfindung wird durch ein Feldgebungsverfahren gebildet, das das Übertragen der Felder, die aus Wafern mit einer Vielzahl von Verbindermolekülen und chemischen Binderanteilen erhalten werden, zu einem Träger in einer stabilen vorbestimmten räumlichen Anordnung, umfaßt. Die Feldgebung oder Übertragung (die hierin als "Aufnahme und Plazie-

runge" bezeichnet wird) kann mit Verfahren durchgeführt werden, die bei der Herstellung integrierter Schaltungen und LEDs bekannt sind (siehe beispielsweise das US-Patent 5,256,792). Das folgende automatisierte Verfahren ist ein Beispiel eines Robotertechnik-Verfahrens, das verwendet wurde, um Felder aufzunehmen und zu plazieren, die Oligonukleotide und Proteine enthalten, beispielsweise einzeln auf einen Träger in einer stabilen räumlichen Anordnung. Ein einzelnes Feld in einer Gruppe von Feldern von einem Wafer innerhalb eines x-y-Gitters wird mit Hilfe einer Kamera lokalisiert. Das Feld wird mit einer Vakuumsonde aufgenommen, mit einer Kamera wiederum inspiziert, mit einem x-y-Planarmotor zu einer vorbestimmten Position auf einem Träger bewegt und in einen Halter in den Träger eingefügt. Die Felder können in einem kreisförmigen Muster angeordnet und durch gerillte Kanäle, die in dem Träger gebildet sind, in Position gehalten werden. Alternativ können die Felder durch ein Haftmittel gehalten werden. Da der Ursprung jedes Felds bekannt ist (d. h. der Wafer, von dem das Feld stammt), sind die Zielchemikalien bekannt, die durch jedes Feld gebunden werden. Die Techniken zum Bilden von Mikrostrukturen, beispielsweise Taschen, Rillen oder Kanälen, die es ermöglichen, Felder in einem Träger zu befestigen, sind auf dem Gebiet der Mikroherstellungstechnik gut bekannt. Eine weitere alternative Anordnung ist die, die in Fig. 5 gezeigt ist. Eine Verdrahtung ist vorgesehen, um die Lichtquellen mit einer Elektrizitätsquelle und einer Steuer-(Schalt-) Vorrichtung elektrisch zu verbinden, die die Aktivierung der Lichtquellen steuert.

Die Arrays der vorliegenden Erfindung sind zur Verwendung bei einer molekularen, auf Erkennung basierenden Untersuchung für die Analyse einer Probe, der unterstellt wird, daß dieselbe eine oder mehrere Zielchemikalien (markierte Analyte) enthält, deren Erfassung erwünscht ist, bestimmt. Die Probe wird in Kontakt mit einem Array von Molekülen bekannter Struktur oder Aktivität, die an vorbestimmten räumlichen Positionen auf einem Träger angeordnet sind, gebracht. Jedes Fluidiksystem oder Fluidhandhabungssystem, das zum Zuführen einer flüssigen Probe zu einem Array geeignet ist, kann zu diesem Zweck verwendet werden. Beispielsweise kann das Fluidiksystem Rohrleitungen, Reagenzgefäße, Pipetten, Ventile, elektrische Steuerungen und dergleichen enthalten, die Fachleuten bekannt sind.

Die Zielchemikalie und daher das Analyt wird von einer Arraylichtquelle erkannt und an derselben selektiv gebunden; die Bindung ist von ausreichend hoher Affinität, um zu ermöglichen, daß das Analyt durch die Arraylichtquelle zurückgehalten wird, bis die Erfassung des Analyts erreicht wurde. Die selektive Erkennung kann auf eine unterschiedliche physikalisch-chemische Charakteristik des Analyts gestützt werden (beispielsweise einen Bereich mit einer speziellen Ladungsverteilung oder Polarität, der durch ein Arraymolekül erkannt werden kann), oder ein spezifisches chemisches Merkmal des Analyts (beispielsweise eine spezifische Primärsequenz in einer Nukleinsäure, einem Protein oder einem Polysaccharid, einer sekundären Aufbaustruktur oder Aufbaustruktur höherer Ordnung, oder einer spezifischen chemischen Gruppe oder Kombination von Gruppen, um eine aktive Stelle zu bilden). Es wird angenommen, daß die Arrays, die durch das Verfahren dieser Erfindung gebildet werden, zur Klassierung von chemischen und molekularbiologischen Bibliotheken für neue therapeutische Mittel, zum Identifizieren von Liganden für bekannte biologische Rezeptoren und neue Rezeptoren für bekannte Liganden, zum Identifizieren ausgedrückter Gene, zum Charakterisieren genetischer Polymorphismen, zum Genotypisieren menschlicher Populationen für diagnostische und therapeutische Zwecke und viele andere Verwendungen brauchbar

sind.

A. Array-Lichterfassung

Ein Detektor wird verwendet, um das Licht, das eine Folge einer Lichtwechselwirkung in dem Array ist, zu erfassen. Vorzugsweise wird ein Arraydetektor verwendet, um das Signal von jeder Lichtquelle einzeln zu messen. Zumindest ein Detektorelement wird verwendet, um das Signal von jeder Lichtquelle zu messen, beispielsweise der Lichtquelle 12 in dem Array von Fig. 1. Jedoch können mehr als ein Detektorelement verwendet werden, um die Zielchemikalien Über-Abzutasten (over-sample), was die Unterscheidung gegenüber Ungleichmäßigkeiten ermöglicht. Die Überabtastung ermöglicht eine schnelle Signalerfassung mit Niederleistungs-Lichtquellen. Ein Beispiel eines Arraydetektors ist ein Festkörper-Halbleiterbauelement, beispielsweise ein CCD-Array (CCD = charge-coupled device = ladungsgekoppeltes Bauelement). Festkörper-Halbleiter-Detektorarrays können durch einen thermischen Elektrokühler gekühlt werden, um eine Dunkelladungsansammlung zu reduzieren, um das Rauschverhalten und die Empfindlichkeit der Analysetechnik zu verbessern.

Das Anregungslicht von einer Lichtquelle fällt auf die Markierung (beispielsweise ein fluoreszentes Molekül, das an das Analyt in der Zielchemikalie gebunden ist) und bewirkt, daß dieselbe Licht als das Lichtwechselwirkungssignal emittiert. Nur Felder mit einer Zielchemikalie, die eine Markierung aufweist, werden das Lichtwechselwirkungssignal emittieren. Die erfaßten Lichtwechselwirkungssignale sind mit der elektronischen Anregung für die Lichtquellen synchronisiert und werden vorzugsweise durch eine elektronische Verarbeitungseinheit, beispielsweise einen Mikroprozessor oder einen Computer, verarbeitet. Durch das Analysieren des Musters der Lichtwechselwirkung in dem Array kann die Identität der Analyte in der Probe bestimmt werden.

Das Vorliegen unterschiedlicher Zielchemikalien, die auf einer Oberfläche auf unterschiedlichen einzelnen Lichtquellen gebunden sind, ohne dazwischenliegende mechanische Strukturen (beispielsweise Linsen, Prismen, Strahlsteuervorrichtungen) ermöglicht, daß kompakte Arrayvorrichtung hergestellt werden. Ferner ist der Bedarf nach Abbildungsoptiken, um Anregungslicht von den Lichtquellen auf die Zielchemikalien zu kanalisieren, beseitigt. Es ist vorteilhaft, daß derartige Optiken nicht erforderlich sind, da dazwischenliegende Optiken, wie z. B. eine Linse, eine Aberration erzeugen können und den Anregungslichtweg stören können. Ferner sind derartige Optiken unvollkommen, wobei Oberflächen ihrer optischen Elemente unvermeidlich eine bestimmte Lichtstreuung bewirken und ein erhöhtes Rauschen zur Folge haben.

B. Multiplexen

Statt der Verwendung eines Arraydetektors, um die Lichtwechselwirkung zu erfassen, kann ein optischer Einzelementedetektor verwendet werden. Zu diesem Zweck kann entweder ein zeitliches Multiplexen oder ein Frequenzmultiplexen durchgeführt werden.

Beim Zeitmultiplexen können die Lichtquellen, beispielsweise die Lichtquelle 12, auf eine zeitlich multiplexte Art und Weise angeregt, d. h. aktiviert, werden. Beim Zeitmultiplexen werden die Lichtquellen einzeln und sequentiell aktiviert. Die Lichtwechselwirkungssignale werden durch den gleichen Detektor erfaßt. Da die Anregungszeit und die Zeit der Lichtwechselwirkung für jedes der Felder bekannt ist, wobei sich dieselben zwischen den Feldern unterscheiden,

ist die Identität von jedem der Felder, die Lichtwechselwirkungssignale emittieren, bekannt. Folglich kann das Lichtwechselwirkungsmuster analysiert werden, um die gewünschten Informationen über die Analyte in der Probe zu erhalten.

Beim Frequenzmultiplexen werden die Lichtquellen in dem Array gleichzeitig angeregt, wobei ein einzelner Lichtdetektor verwendet werden kann, um die Lichtwechselwirkungssignale zu erfassen. Jede der Lichtquellen ist derart gesteuert, daß sich die Intensität ihres Anregungslichts regelmäßig periodisch ändert, beispielsweise in einer sinusförmigen Form, einer Rechtecksignalform, einer Sägezahnform, und dergleichen. Die Frequenz dieser Lichtintensitätsänderungen unterscheidet sich für jede der Lichtquellen. Folglich wird sich die Frequenz der Lichtwechselwirkungssignale von Lichtquelle zu Lichtquelle unterscheiden. Durch das Analysieren der Frequenzen der Lichtwechselwirkungssignale, wenn die Lichtquellen aktiviert sind, kann die Identität der Felder, die eine Lichtwechselwirkung bewirken, was die Bindung von Zielchemikalien anzeigt, bestimmt werden. Ein Spektrumanalysator kann angeschlossen sein, um die elektrischen Signale von dem Lichtdetektor zum Zweck des Analysierens des Spektrums der Lichtwechselwirkungssignale, die durch den Lichtdetektor erfaßt werden, zu empfangen. Die einzelnen Signale können durch den Spektrumanalysator aufgelöst und gemessen werden. Die Spektrumanalyse kann mittels mehrerer Modulatoren und Demodulatoren oder durch eine digitale Signalverarbeitung auf eine analoge Weise erfolgen. In dem letztgenannten Fall kann ein Analog/Digital-Wandler verwendet sein, um das

Ausgangssignal des Lichtdetektors zu digitalisieren. Die digitalisierten Daten können durch ein digitales Filter in einem Computer, einem Mikroprozessor usw., mit gut bekannten Techniken, beispielsweise einer schnellen Fourier-Transformation, gefiltert werden.

Festkörper-Halbleiterbauelemente sind einer Hochfrequenzmodulation zugänglich. Eine Erfassung der optischen Signale bei einer Frequenz f über dem Amplitudenrauschen der Quellen oder dem $1/f$ -Rauschen des Lichtdetektors wird die sensitive Erfassung von Zielchemikalien erleichtern. Die Fähigkeit, die Frequenzmultiplextechnik zu verwenden, ist vorteilhaft dahingehend, daß die Analyse in einer kurzen Zeit erreicht werden kann, da alle Lichtquellen gleichzeitig aktiviert werden können. Ferner existiert mit dem Array der vorliegenden Erfindung kein Bedarf danach, eine Lichtquelle zu verschieben oder einen Lichtstrahl zu steuern, um die einzelnen Elemente in dem chemischen Array zu beleuchten. Daher ist das Risiko eines mechanischen Ausfalls reduziert.

Das Erfassen der Lichtwechselwirkung mit einem geeigneten Detektor wird ein Lichtwechselwirkungsmuster zur Folge haben, bei dem bestimmte Orte in dem Muster eine Wechselwirkung zeigen und bestimmte Orte nicht. Wie vorher erwähnt wurde, wird das Analysieren des Lichtwechselwirkungsmusters in dem Array Informationen über die Zielchemikalien liefern und daher die Analyte, die an den Feldern gebunden sind. Die Identität einer Zielchemikalie, die an einem speziellen Ort in dem Array an ein Feld gebunden ist, kann durch das Erfassen des Orts der Lichtwechselwirkung in dem Muster und das Verbinden desselben mit einer gekennzeichneten Datei des Arrays bestimmt werden. Die gekennzeichnete Datei ist eine Informationsdatei, in der die Identität und die Position jedes chemikalischen Binderanteils in dem Array, das zu der Datei gehört, gespeichert ist. Es existieren verschiedene Verfahren zum Verbinden dieser gekennzeichneten Datei mit dem physikalischen Array. Beispielsweise kann die gekennzeichnete Datei physikalisch auf dem Array oder dem Gehäuse desselben mittels eines Si-

liziumpchips, eines Magnetstreifens oder eines Strichcodes codiert sein. Alternativ könnten die Informationen, die das Array zu einer speziellen gekennzeichneten Datei identifizieren, auf einem Array oder dem Gehäuse desselben enthalten sein, wobei die tatsächliche Datei in der Datenanalysevorrichtung oder in einem Computer, der in Verbindung mit der Vorrichtung ist, gespeichert sind. Die Verbindung der gekennzeichneten Datei mit dem physikalischen Array würde zur Zeit der Datenanalyse stattfinden. Noch eine weitere Möglichkeit des Verbindens bestünde darin, die gekennzeichnete Datei in einer Vorrichtung, beispielsweise einer Platte oder einer Karte, zu speichern, die durch den Benutzer des Arrays zu der Zeit, zu der das Array bei der Untersuchung verwendet wird, in die Datenanalysevorrichtung eingeführt werden könnte.

Obwohl die darstellenden Ausführungsbeispiele der Vorrichtung der vorliegenden Erfindung und der Verfahren zum Herstellen und Verwenden der Vorrichtung detailliert beschrieben wurden, sollte es offensichtlich sein, daß die oben beschriebenen Ausführungsbeispiele durch Fachleute speziell hinsichtlich der Größen und Formen und der Kombination der verschiedenen beschriebenen Merkmale modifiziert werden können, ohne vom Bereich der Erfindung abzuweichen. Beispielsweise wird angenommen, daß ein Array hergestellt werden kann, bei dem möglicherweise die meisten (beispielsweise mehr als 50%), jedoch nicht alle der Felder mittels des beschriebenen Feldgebungsverfahrens hergestellt sind.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Analysieren von Zielchemikalien mit folgenden Merkmalen:

einem Array (100) von zwei oder mehr Lichtquellen (12), die jeweils eine emittierende Oberfläche (16) aufweisen, von der Licht von der Lichtquelle (12) emittiert wird; und

zwei oder mehr chemikalischen Binderanteilen (20), die den Lichtquellen (12) an den emittierenden Oberflächen (16) zugeordnet sind, zum Binden von Zielchemikalien derart, daß unterschiedliche Zielchemikalien an dem Array (100) gebunden werden können, wobei die Lichtquellen (12), wenn dieselben aktiviert sind, Licht emittieren, um eine Lichtwechselwirkung mit den Zielchemikalien zu bewirken, um ein Lichtmuster zu erzeugen, um das Vorliegen oder die Menge der Zielchemikalien anzuzeigen.

2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, bei der das Array ein in Felder unterteiltes Array (100) ist, und bei der die Lichtquellen Festkörper-Lichtquellen (109) sind.

3. Vorrichtung gemäß Anspruch 2, bei der 50% oder mehr der Festkörper-Lichtquellen durch Teilen eines Wafers aus einem Festkörper-Lichtquellenmaterial in kleinere Felder (129) von Lichtquellen hergestellt sind.

4. Vorrichtung gemäß einem beliebigen der Ansprüche 1 bis 3, bei der die Lichtquellen (12) entweder lichtemittierende Dioden, Oberflächen-emittierende Vertikalhohlraumlasers oder kantenemittierende Diodenlasers aufweisen.

5. Vorrichtung gemäß einem beliebigen der Ansprüche 1 bis 4, bei der auf jeder Lichtquelle (12) zumindest ein chemischer Binderanteil (20) vorliegt und nicht alle Lichtquellen (12) den gleichen chemischen Binderanteil aufweisen, derart, daß jede der Zielchemikalien zumindest einer der Lichtquellen (12) zugeordnet sein kann, wobei die Lichtquellen (12), wenn dieselben aktiviert sind, Licht emittieren, das eine Fluoreszenz in den Zielchemikalien bewirkt.

6. Verfahren zum Herstellen einer Vorrichtung zum Analysieren von Zielchemikalien mit folgenden Merkmalen:

Anordnen von Feldern (129) von Lichtquellen (12) in einem Array (100), wobei die Felder (129) der Lichtquellen chemische Binderanteile (20) auf denselben zum Binden von Zielchemikalien aufweisen, derart, daß jede Zielchemikalie zumindest einem der Felder (129) in dem Array (100) zugeordnet ist, das einen chemischen Binderanteil (20) aufweist, der zum Binden der Zielchemikalie geeignet ist, und derart, daß unterschiedliche Zielchemikalien an dem Array (100) gebunden werden können, wobei die Felder (129) von Lichtquellen, wenn dieselben aktiviert sind, Licht emittieren, um eine Lichtwechselwirkung mit den Zielchemikalien zu bewirken, um ein Lichtmuster zu erzeugen, um das Vorliegen der Zielchemikalien anzuzeigen.

7. Verfahren gemäß Anspruch 6, das ferner das Binden einer oder mehrerer Spezies von Bindermolekülen (18), die die chemischen Binderanteile (20) aufweisen, auf einer Oberfläche (102) auf jeder der Lichtquellen (12), um das Feld (129) zu erhalten, aufweist.

8. Verfahren gemäß Anspruch 6 oder 7, das ferner das Bereitstellen von zwei oder mehr Wafern (121) des Festkörper-Lichtquellenmaterials, das Binden von einem oder mehreren chemischen Binderanteilen (127) auf einer Oberfläche auf jedem der Wafer (121) derart, daß jede Zielchemikalie zumindest einen der Wafer (121), der einen chemischen Binderanteil aufweist, der zum Binden der Zielchemikalie geeignet ist, aufweist, und das Spalten des Wafers (121), um die Felder (129) von Lichtquellen zu erhalten, aufweist.

9. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 6 bis 8, bei dem das Binden der chemischen Binderanteile (127) auf einer Oberfläche das Befestigen eines Festkörpermaterials, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus lichtemittierenden Dioden, kantenemittierenden Diodenlasern und oberflächenemittierenden Vertikalhohlraumlasern besteht, auf der Oberfläche aufweist.

10. Verfahren zum Analysieren von Zielchemikalien in einer Probe mit folgenden Merkmalen:

(a) Bereitstellen eines Arrays (100) von zwei oder mehr Lichtquellen (12), von denen jede eine emittierende Oberfläche (16) aufweist, von der Licht von der Lichtquelle (12) emittiert wird, und zwei oder mehr chemische Binderanteile (20), die den Lichtquellen (12) an der emittierenden Oberfläche (16) zugeordnet sind, zum Binden von Zielchemikalien, derart, daß unterschiedliche Zielchemikalien an dem Array (100) gebunden werden können;

(b) Spülen der Probe über das Array (100), um Zielchemikalien in der Probe an den Lichtquellen (12) zu binden und Abspülen, um ungebundene Teile der Probe zu beseitigen;

(c) Emittieren von Licht von den Lichtquellen (12), um eine Lichtwechselwirkung durch Zielchemikalien, die in dem Array (100) gebunden sind, zu bewirken, wobei die Lichtwechselwirkung ein Lichtmuster zur Folge hat; und

(d) Analysieren des Lichtmusters, um das Vorliegen oder die Menge von Zielchemikalien in der Probe zu bestimmen.

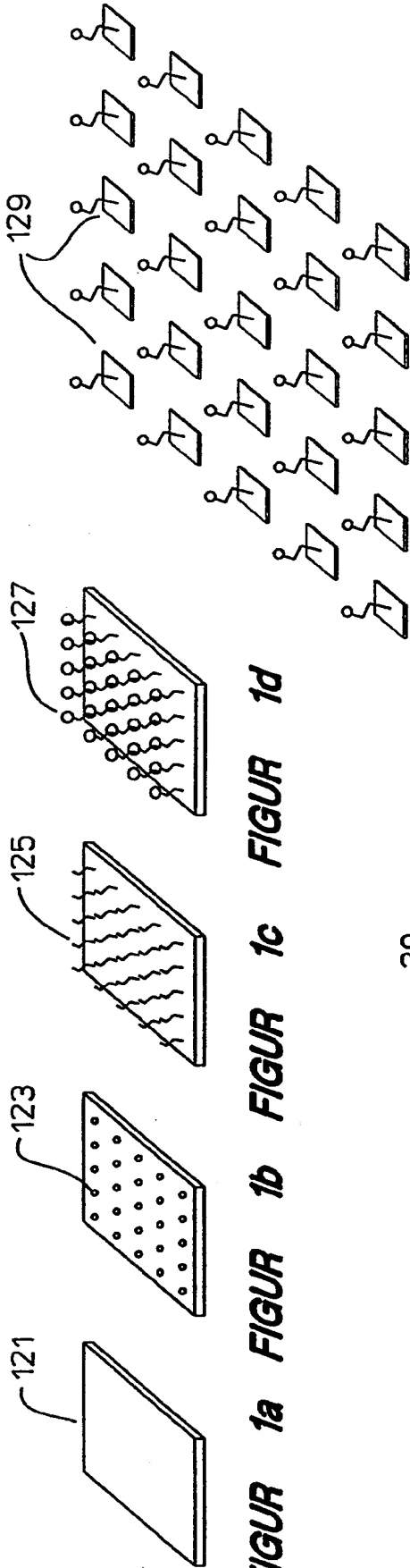


FIGURE 1e

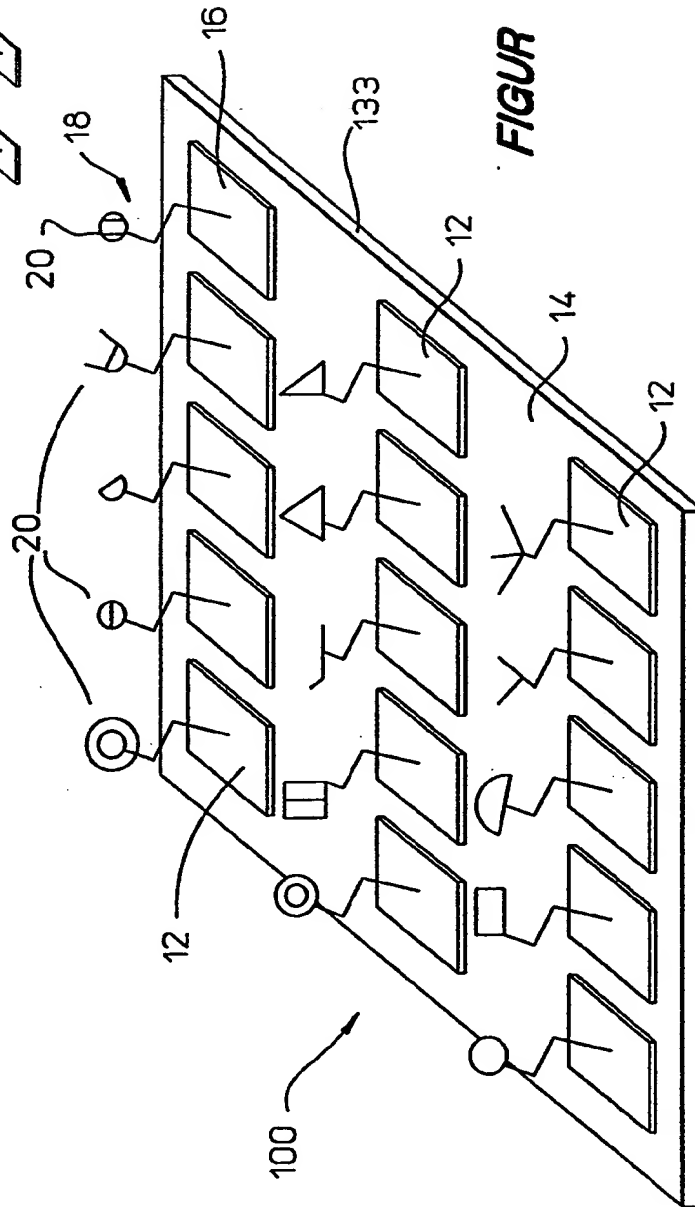
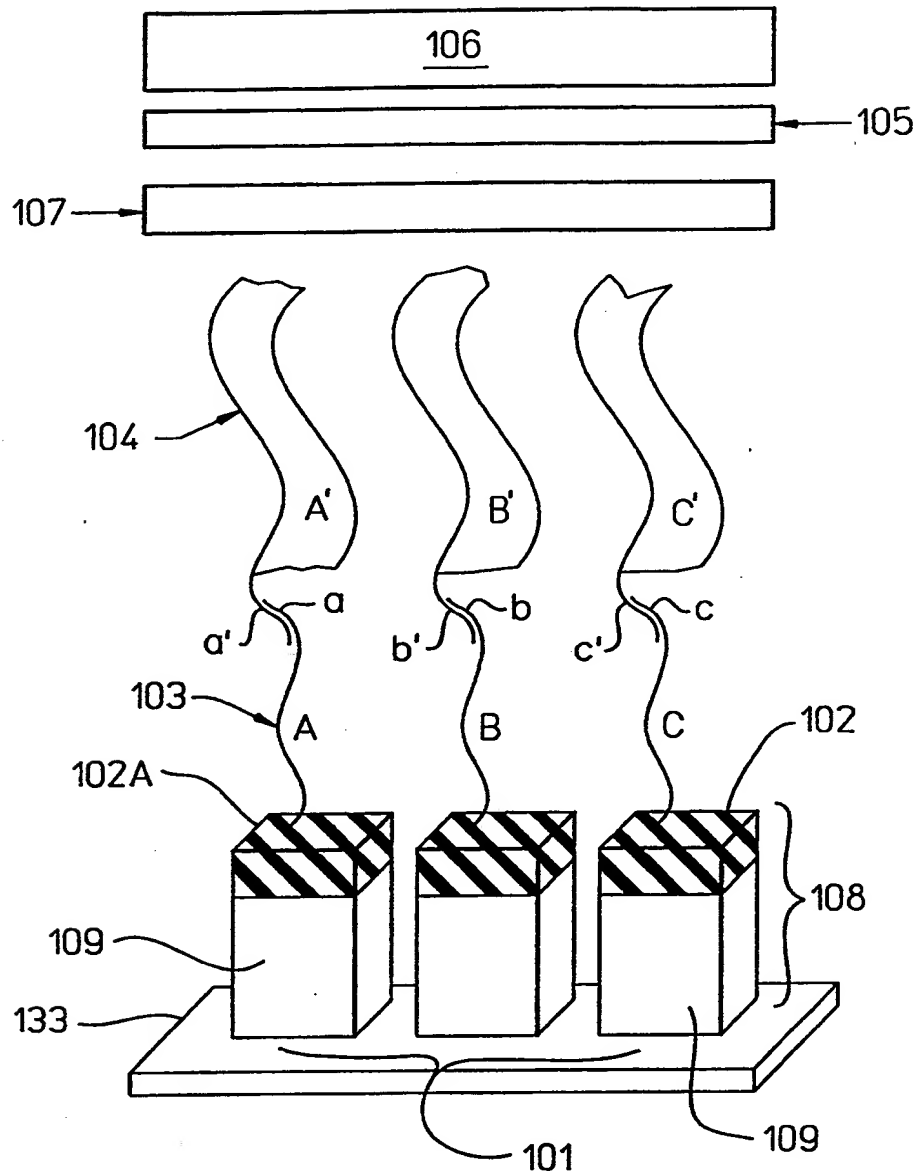
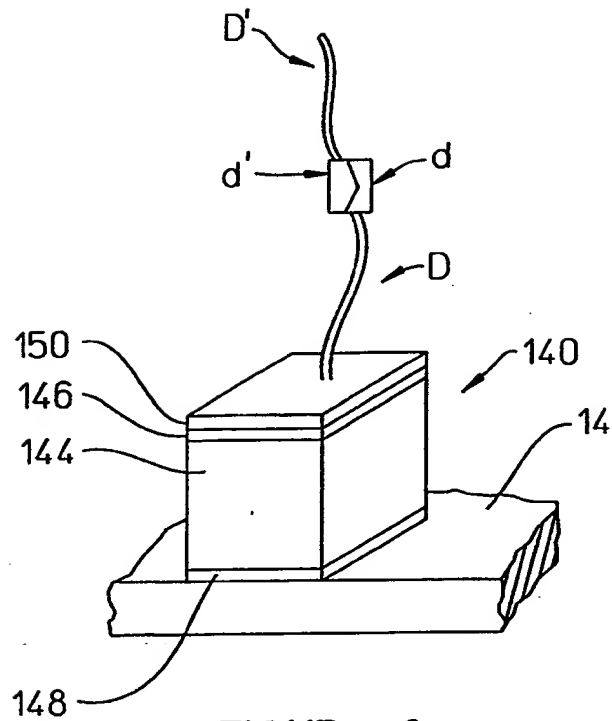


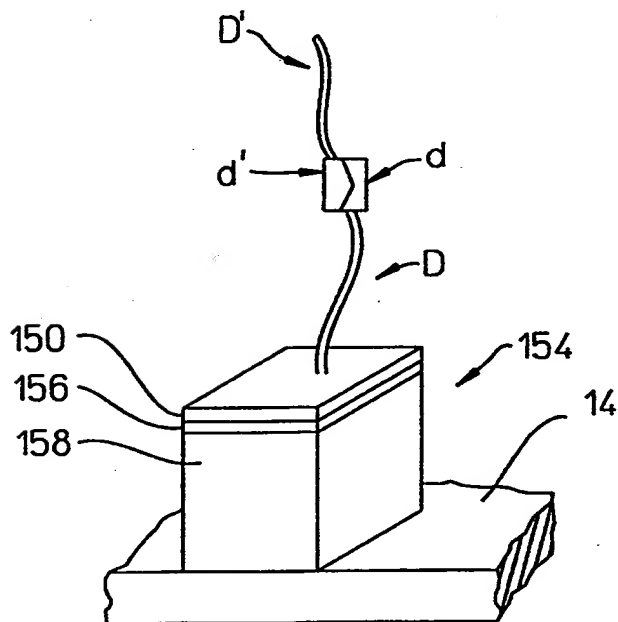
FIGURE 1f



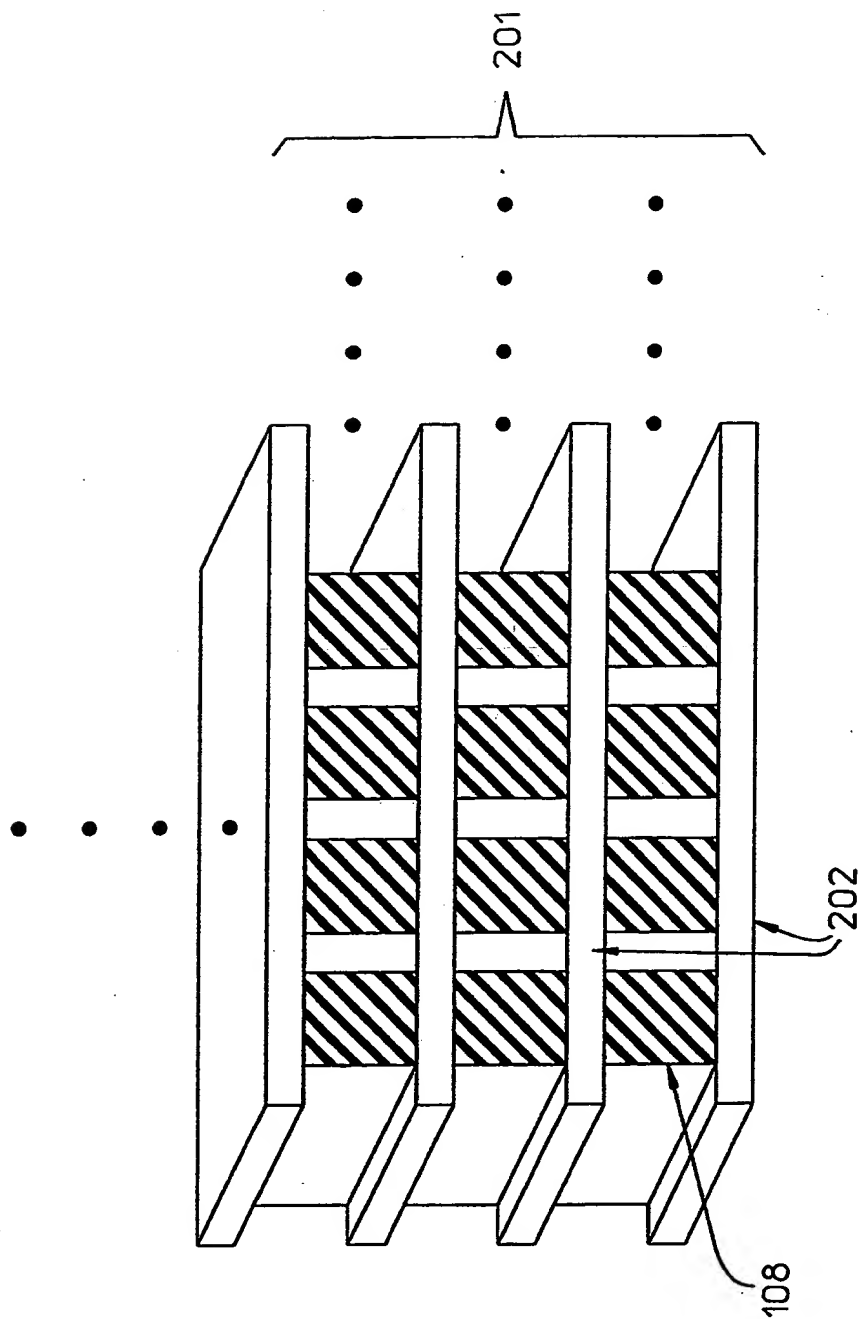
FIGUR 2



FIGUR 3



FIGUR 4



FIGUR 5

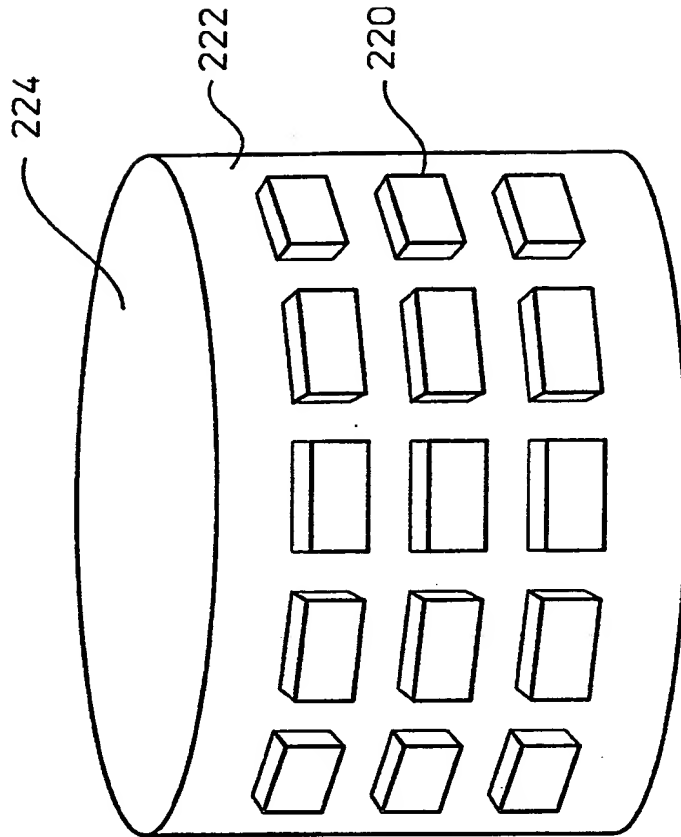


FIGURE 6